饲料中胆固醇和卵磷脂水平及添加表面活性素对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响

翟少伟　苏保元　张春晓*

（厦门市饲料检测与安全评价重点实验室，集美大学水产学院，厦门 361021）

摘　要：通过 2 组试验分别研究饲料中胆固醇和卵磷脂水平对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)蜕壳间期及添加表面活性素对凡纳滨对虾蜕壳间期和肝胰脏抗氧化能力的影响。试验一：将 100 尾均重为（0.61±0.02） g 的凡纳滨对虾随机分为 10 组（每组 10 个重复，每个重复 1 尾虾），即饲喂基础饲料的对照组以及饲喂分别添加 0.2%、0.4%和 0.6%胆固醇与 1.0%、2.0%和 3.0%卵磷脂的试验饲料的 9 个试验组，试验期为 35 d，研究饲料中胆固醇和卵磷脂水平对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响。试验二：将 90 尾均重为（0.48±0.03） g 的凡纳滨对虾随机分为 6 组（每组 15 个重复，每个重复 1 尾虾），对照组饲喂试验一中胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%的试验饲料，5 个表面活性素添加组分别饲喂在对照组饲料基础上添加 10、20、40、80 和 160 mg/kg 表面活性素的试验饲料，研究饲料中添加表面活性素对凡纳滨对虾蜕壳间期及肝胰腺抗氧化能力的影响，试验期为 28 d。结果表明：饲料中胆固醇水平显著影响凡纳滨对虾蜕壳间期（$P<0.05$），卵磷脂水平对蜕壳间期的影响不显著（$P>0.05$）；饲料中胆固醇和卵磷脂水平对蜕壳间期的影响存在显著的交互作用（$P<0.05$）。胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 1.0%组、胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%组以及胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.6%和 2.0%组的蜕壳间期显著短于其他组（$P<0.05$），其中胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%组蜕壳间期最短。与对照组相比，仅 10 mg/kg 表面活性素添加组凡纳滨对虾蜕壳间期显著缩短（$P<0.05$），肝胰腺总抗氧化能力显著提高（$P<0.05$）；各表面活性素添加组的肝胰腺超氧化物歧化酶活性均较对照组显著上升（$P<0.05$）；与对照组相比，10 和 20 mg/kg 表面活性素添加组的肝胰腺过氧化氢酶活性升高（$P<0.05$），其他表面活性素添加组则显著降低（$P<0.05$）；除 10 mg/kg 表面活性素添加组外，各表面活性素添加组

收稿日期：2016-12-05

基金项目：农业部公益性行业专项子项目“甲壳类代表种对虾的新蛋白源饲料开发、养殖效果及产业推广”（201303053）

作者简介：翟少伟（1973—），男，河北晋州人，副教授，博士，研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: shaoweizhai@163.com

*通信作者：张春晓，副教授，硕士生导师，E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

的肝胰腺谷胱甘肽过氧化物酶活性均较对照组显著上升（*P*<0.05）；仅 10 和 20 mg/kg 表面活性素添加组的肝胰腺丙二醛水平较对照组显著降低（*P*<0.05）。由此得出，本试验条件下，饲料中胆固醇水平及其与卵磷脂水平的交互作用显著影响凡纳滨对虾蜕壳间期，胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%时蜕壳间期最短；在胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%的饲料中添加 10 mg/kg 表面活性素可缩短凡纳滨对虾的蜕壳间期，提高肝胰腺抗氧化能力。

关键词：胆固醇；卵磷脂；表面活性素；凡纳滨对虾；蜕壳间期

中图分类号:S963　　文献标识码:A　　文章编号:

胆固醇是很多甲壳动物的必需营养素[1]，其可转化为性激素、肾皮质激素，也是合成蜕壳激素的主要物质[2]；卵磷脂对维持细胞结构和功能以及动物的生长和分化具有重要作用[3]。甲壳动物在体内不能合成胆固醇，能部分合成磷脂，但是这种合成能力不能满足甲壳动物幼体新陈代谢的需要[4]，需要外源添加满足自身需求。研究表明，饲料中添加胆固醇可显著提高日本对虾（*Penaeus japonicus*）的增重率和存活率[5-6]；添加卵磷脂能够促进墨吉对虾（*Penaeusmerguiensis*）[7]、凡纳滨对虾（*Litopenaeus vannamei*）[8]和斑节对虾（*Penaeus monodon*）[9]的生长。甲壳动物生长发育总是伴随着蜕皮与蜕壳的进行，提高蜕壳频率能促进生长[10]。然而，以往研究中多见于单独添加胆固醇或卵磷脂对甲壳动物蜕壳的影响[5-9]，在饲料中同时添加胆固醇和卵磷脂的报道较少。

饲料中添加乳化剂能促使脂类进一步分散形成乳化微粒，增大油脂与脂肪酶和肠黏膜细胞的接触面积，提高脂类的消化吸收[11]。卵磷脂除营养作用外，还作为乳化剂添加在饲料中，但其乳化作用有限[12]。饲料中添加乳化能力更强的物质能否通过提高甲壳动物对脂类物质的消化吸收，进而促进蜕壳过程值得研究。近年来，一些枯草芽孢杆菌菌株经次级代谢产生的脂肽类物质——表面活性素（surfactin）因其很强的乳化能力，引起了人们的极大关注；其分子结构由 13~15 个碳原子组成的脂肪酸链和由 7 个氨基酸残基组成的肽链构成，其中脂肪酸链及肽链上的 L-Leu_2、D-Leu_3、L-Val_4、D-Leu_6 和 L-Leu_7 构成其亲油基团，环链骨架与 L-Glu_1 和 L-Asp_5 2 个酸性氨基酸残基构成亲水基团，使其在较低的浓度下就可以聚集在一起形成胶束，具有优良的乳化特性，是目前已知的最强的生物表面活性剂之一[13-15]。本课题组以往的研究表明，饲料中添加表面活性素能够促进鱼体内脂肪的消化吸收，提高肝脏的抗氧化能力

[15-16]。凡纳滨对虾蜕壳间期的肝胰腺抗氧化能力降低，容易造成机体应激[17-19]，改善凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化能力对蜕壳和生长具有重要意义。饲料中添加表面活性素能否对凡纳滨对虾蜕壳间期和肝胰腺抗氧化能力产生作用还鲜见报道。因此，本试验以凡纳滨对虾为试验动物，研究不同胆固醇和卵磷脂水平对蜕壳间期的影响，及在适宜胆固醇和卵磷脂水平的饲料中添加不同水平表面活性素后蜕壳间期及肝胰腺抗氧化能力的变化，以期为凡纳滨对虾蜕壳的营养调控提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验一：试验一在集美大学水产学院生态实验室进行。凡纳滨对虾虾苗暂养 2 周后，将 100 尾均重为（0.61±0.02） g 健康无病、规格均匀的凡纳滨对虾随机分为 10 组，每组 10 个重复，每个重复 1 尾虾。9 个试验组（D1~D9 组）分别饲喂添加 0.2%、0.4%和 0.6%胆固醇与 1.0%、2.0%和 3.0%卵磷脂的 9 种试验饲料，对照组（D10 组）饲喂未添加胆固醇和和卵磷脂的基础饲料。试验期为 35 d。

试验二：试验二在集美大学水产试验场进行。凡纳滨对虾虾苗暂养 2 周后，将 90 尾均重为（0.48±0.03） g 健康无病、规格均匀的凡纳滨对虾随机分为 6 组，每组 15 个重复，每个重复 1 尾虾。对照组饲喂试验一中胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%的试验饲料，5 个表面活性素添加组分别饲喂在对照组饲料基础上添加 10、20、40、80 和 160 mg/kg 表面活性素的试验饲料。试验期为 28 d。

1.2 饲料组成与饲养管理

以鱼粉、豆粕和谷朊粉为蛋白质源，鱼油和豆油为脂肪源配制试验饲料，试验饲料组成及营养水平见表 1。饲料原料粉碎过 60 目筛，原料采用逐级扩大法混合，再加入鱼油、豆油和水混合均匀，用双螺杆制粒机挤（CD4×1TS 型，华南理工大学科技实业总厂）压成直径为 0.8 mm 的颗粒料，自然风干后，置于自封袋中，-20 ℃冷冻保存备用。胆固醇和卵磷脂均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司，分析纯级。表面活性素由福建正源有限公司提供，有效含量为 80%。

表 1 试验饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis) %

项目 Items	组别 Groups									
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
原料 Ingredients										
鱼粉 Fish meal	12.15	12.15	12.15	12.15	12.15	12.15	12.15	12.15	12.15	12.15
豆粕 Soybean meal	52.50	52.50	52.50	52.50	52.50	52.50	52.50	52.50	52.50	52.50
谷朊粉 Wheat gluten meal	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
α-淀粉 α-starch	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	20.00
鱼油 Fish oil	3.50	3.50	3.50	2.50	2.50	2.50	1.50	1.50	1.50	2.50
豆油 Soybean oil	1.95	1.75	1.55	1.95	1.75	1.55	1.95	1.75	1.55	2.15
预混料 Premix	6.70	6.70	6.70	6.70	6.70	6.70	6.70	6.70	6.70	6.70
胆固醇 Cholesterol	0.20	0.40	0.60	0.20	0.40	0.60	0.20	0.40	0.60	0.00
卵磷脂 Lecithin	1.00	1.00	1.00	2.00	2.00	2.00	3.00	3.00	3.00	0.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels										
水分 Moisture	8.75	8.66	8.37	8.54	9.01	8.55	8.63	8.44	8.81	8.55
粗蛋白质 CP	38.36	38.33	38.42	38.52	38.63	38.58	38.78	38.76	38.69	38.65
粗脂肪 EE	7.18	7.16	7.09	7.32	7.29	7.32	7.41	7.46	7.44	7.21
粗灰分 Ash	8.01	7.98	8.05	8.02	8.04	8.05	8.02	8.05	8.03	7.96

预混料为每千克饲料提供 Premix supplied the following per kg of diets：$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ 20 000 mg，$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 5 000 mg，KH_2PO_4 8 000 mg，乳酸钙 calcium lactate 5 000 mg，KCl 1 000 mg，NaCl 1 000 mg，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 6 000 mg，柠檬酸铁 ferric citrate 800 mg，$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 24 mg，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 190 mg，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 100 mg，$CoSO_4 \cdot 7H_2O$ 50 mg，KI 8 mg，Na_2SeO_3 2 mg，$Al(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ 25 mg，纤维素 cellulose 30 030.6 mg，VA 10 mg，VD 10 mg，VC 2 000 mg，VK 40 mg，VE 500 mg，VB_1 60 mg，VB_2 70 mg，VB_6 80 mg，VB_{12} 0.4 mg，烟酸 nicotinic acid 200 mg，泛酸钙 calcium

pantothenate 200 mg，生物素 biotin 2 mg，肌醇 inositol 500 mg，叶酸 folic acid 8 mg，对氨基苯甲酸钠 para-aminobenzoic acid sodium salt 90 mg，苏氨酸 Ser 47.48 mg，甘氨酸 Gly 359.80 mg，缬氨酸 Val 288.49 mg，蛋氨酸 Met 81.86 mg，亮氨酸 Leu 54.93 mg，酪氨酸 Tyr 16.01 mg，赖氨酸 Lys 173.71 mg，组氨酸 His 16.19 mg，氯化胆碱 choline chloride 50 000 mg，酵母核酸 nucleic acid 10 000 mg，褐藻酸钠 sodium alginate 10 000 mg，防霉剂 mold inhibitor 1 500 mg，抗氧化剂 antioxidant 500 mg。

1.3 饲养管理

凡纳滨对虾暂养期间，饲养于 350 L 水体的圆形养殖缸（直径 100 cm，高 85 cm）中，每日投喂 3 次基础饲料，定时吸污、换水。试验期间凡纳滨对虾养殖于装有 24 h 持续增氧的 2 L 透明塑料烧杯中，每天 08:30、12:30 和 18:30 饱食投喂。投喂 0.5 h 后吸出残料和粪便，换水约 1/3。试验用水为试验场新鲜海水，盐度为 24‰~28‰，pH 8.0~8.2，亚硝酸盐含量低于 0.02 mg/L，氨氮含量低于 0.2 mg/L，增氧机持续增氧。光照为自然光源和荧光灯，光照周期为 12 明（L）：12 暗（D）。试验期间每日 00：00—08：00 每隔 2 h 观察蜕壳情况，08:00—24：00 每隔 4 h 观察蜕壳情况，及时吸出外壳并做好记录。

1.4 样品采集与组织匀浆的制备

试验二养殖试验结束后禁食 24 h 采集样品，摘取肝胰腺放入冻存管置于-80 ℃下备用。称取 0.1 g 肝胰腺组织，按重量（g）：体积(mL）=1：9 加入 0.86%冰冷的生理盐水，用匀浆机连续匀浆 3～5 次。最后把制备好的组织匀浆在 4 ℃离心机下离心（3 000 r/min，10 min），将上清液进行分装以备待用。

1.5 测定指标和方法

蜕壳间期为相邻 2 次蜕壳的时间间隔，单位 h，参考龙晓文等[20]和关建义等[21]的方法，计算每尾虾试验开始 1 周后前 3 次脱壳的平均时间间隔。

凡纳滨对虾肝胰腺的总抗氧化能力(total antioxidant capacity,T-AOC)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性、过氧化氢酶(catalase,CAT)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)活性和丙二醛(malondialdehyde,MDA)水平采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定。

1.6 数据统计分析

试验数据用 Excel 2003 整理后，采用平均值±标准差(mean±SD)表示。试验一中数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行双因素方差分析（two-way ANOVA），试验二中数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），显著水平为 $P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 饲料中胆固醇和卵磷脂水平对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响

由表 2 可知，饲料中胆固醇水平可显著影响凡纳滨对虾的蜕壳间期（$P<0.05$），卵磷脂水平对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响不显著（$P>0.05$）；饲料中胆固醇和卵磷脂水平对蜕壳间期的影响存在显著的交互作用（$P<0.05$）。D2、D5 和 D6 组凡纳滨对虾的蜕壳间期显著低于除 D1 和 D7 组外的其他各组（$P<0.05$），其中 D5 组蜕壳间期最短。

表 2 饲料中胆固醇和卵磷脂水平对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响

Table 2 Effects of dietary cholesterol and lecithin levels on intermolt period of Pacific white shrimp h

项目 Items	添加水平 Supplemental level/%		蜕壳间期 Intermolt period
	胆固醇 Cholesterol	卵磷脂 Lecithin	
D1 组 D1 group	0.2	1.0	222.67 ± 10.26^{ab}
D2 组 D2 group	0.4	1.0	205.33 ± 11.72^{a}
D3 组 D3 group	0.6	1.0	248.00 ± 5.66^{c}
D4 组 D4 group	0.2	2.0	238.50 ± 5.74^{bc}
D5 组 D5 group	0.4	2.0	204.00 ± 8.49^{a}
D6 组 D6 group	0.6	2.0	206.67 ± 5.03^{a}
D7 组 D7 group	0.2	3.0	222.00 ± 11.04^{ab}
D8 组 D8 group	0.4	3.0	234.67 ± 7.57^{bc}
D9 组 D9 group	0.6	3.0	231.00 ± 4.24^{bc}
D10 组 D10 group	0	0	249.50 ± 7.72^{c}
P 值 *P*-value			

胆固醇水平 Cholesterol level	0.046
卵磷脂水平 Lecithin level	0.086
胆固醇水平×卵磷脂水平 Cholesterol level×lecithin level	0.001

同列数据肩标相同字母表示差异不显著(*P*＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(*P*＜0.05)。

In the same column, values with the same letter superscripts mean no significant difference (*P*＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (*P*＜0.05).

2.2 饲料中添加表面活性素对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响

由表 3 可知，与对照组相比，仅 10 mg 表面活性素添加组显著缩短凡纳滨对虾蜕壳间期（*P*<0.05），20、40、80 和 160 mg/kg 表面活性素添加组与对照组间无显著差异（*P*>0.05）。

表 3 饲料中添加表面活性素对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响

Table 3 Effects of surfactin supplementation on intermolt period of Pacific white shrimp h

项目 Item	表面活性素添加水平 Surfactin supplemental level/(mg/kg)					
	0	10	20	40	80	160
蜕壳间期 Intermolt period	119.67±3.20[b]	111.33±8.54[a]	116.33±6.00[b]	117.00±3.52[b]	118.40±2.20[b]	117.00±2.45[b]

同行数据肩标相同字母表示差异不显著(*P*＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(*P*＜0.05)。下表同。

In the same row, values with the same letter superscripts mean no significant difference (*P*＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (*P*＜0.05). The same as below.

2.3 饲料中添加表面活性素对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化能力的影响

由表 4 可知，仅 10 mg/kg 表面活性素添加组肝胰腺 T-AOC 显著高于对照组（*P*<0.05），20、40、80 和 160 mg/kg 表面活性素添加组与对照组间无显著差异（*P*>0.05）；与对照组相比，各表面活性素添加组肝胰腺 SOD 活性显著提高（*P*<0.05），且各表面活性素添加组之间无显著差异（*P*>0.05）；10 和 20 mg/kg 表面活性素添加组肝胰腺 CAT 活性显著高于对照组（*P*<0.05），其他表面活性素添加组肝胰腺 CAT 活性则较对照组显著降低（*P*<0.05）；除 10 mg/kg 表面活性素添加组肝胰腺 GSH-Px 活性与对

照组无显著差异外，其他各表面活性素添加组肝胰腺 GSH-Px 活性均较对照组显著升高（*P*<0.05）；10 和 20 mg/kg 表面活性素添加组肝胰腺 MDA 水平显著低于对照组（*P*<0.05），40、80 和 160 mg/kg 表面活性素添加组与对照组间无显著差异（*P*>0.05）。

表 4　饲料中添加表面活性素对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化能力的影响

Table 4　Effects of surfactin supplementation on antioxidant ability in hepatopancreas of Pacific white shrimp

项目 Items	表面活性素添加水平 Surfactin supplemental level/(mg/kg)					
	0	10	20	40	80	160
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg prot)	2.36±0.07[ab]	3.10±0.23[c]	2.30±0.026[a]	2.54±0.048[b]	2.28±0.01[a]	2.52±0.03[b]
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	240.22±4.56[a]	281.87±4.36[b]	269.47±7.60[b]	273.19±10.06[b]	283.98±8.78[b]	278.99±13.21[b]
过氧化物酶 CAT/(U/mg prot)	15.81±1.30[b]	24.57±0.96[c]	23.33±0.92[c]	11.75±0.40[a]	10.36±0.31[a]	10.33±0.89[a]
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mL)	38.51±0.82[a]	40.37±1.67[a]	48.30±0.53[c]	48.15±1.41[c]	50.36±1.84[c]	44.37±2.34[b]
丙二醛 MDA/(nmol/mL)	10.05±0.57[c]	6.68±0.57[a]	8.65±0.28[b]	9.77±0.30[c]	10.01±0.32[c]	10.12±0.31[c]

3　讨　论

3.1　饲料中胆固醇和卵磷脂水平对凡纳滨对虾蜕壳间期的影响

本研究中，饲料显著影响蜕壳间期，且在胆固醇水平为 0.4%时蜕壳间期最短。这与 Tao 等[22]和 Sheen[2]在饲料中分别添加 0.32%和 0.51%胆固醇显著提高中华绒螯蟹和锯缘青蟹蜕壳频率的结果类似，也与墨吉对虾（*Penaeus merguiensis*）和黑虎虾（*Penaeus monodon*）饲料中胆固醇需要量为 0.5%的研究结果接近[7,23]。胆固醇在虾蟹类甲壳动物体内不能由固醇前体从头合成，需要外源添加来满足需求[24]。

胆固醇在对虾体内吸收后被 Y-器官先转化为 5β-diketol，再转化为蜕皮激素，并与位于眼柄 X-器官窦腺复合体分泌的蜕皮抑制激素相互拮抗，从而调控蜕壳周期长短[25-27]。本试验中蜕壳间期的缩短，可能是适宜的胆固醇水平促进了蜕皮激素的合成，抑制了蜕皮抑制激素的合成所致[28-29]，具体的作用途径及机制还有待进一步研究。

本试验中，饲料适宜卵磷脂水平有缩短凡纳滨对虾蜕壳间期的趋势，适宜的卵磷脂水平为 2.0%，这与 Thongrod 等[7]在墨吉对虾中得出的结果一致。此外，Wang 等[30]发现，饲料中卵磷脂水平为 0.5%时对三疣梭子蟹蜕壳频率无显著影响，但卵磷脂水平为 1%和 2%水平时蜕壳频率有升高趋势，这与本研究结果类似。本研究中，饲料卵磷脂与胆固醇水平的交互作用对凡纳滨对虾蜕壳间期有显著影响。这种交互作用也出现在美洲海螯虾（*Homarus americanus*）的研究中，即饲料中不添加卵磷脂情况下,美洲海螯虾胆固醇的需要量为 0.5%[31]，添加卵磷脂的情况下美洲海螯虾胆固醇的需要量为 0.25%[32]，这可能与卵磷脂通过乳化作用促进胆固醇在肠道内的消化吸收有关[33]。而 Briggs 等[34]在罗氏沼泽虾饲料中分别添加 0、0.5%、1.0%的胆固醇和 0、5%的卵磷脂，未发现对蜕壳频率的影响存在显著交互作用，与本试验结果不同，这可能是对虾种类、试验条件、胆固醇和卵磷脂水平等方面的差异所致，饲料中胆固醇和卵磷脂水平对凡纳滨对虾蜕壳间期产生交互作用的机制还有待进一步查明。

3.2　饲料中添加表面活性素对凡纳滨对虾蜕壳间期和肝胰腺抗氧化能力的影响

本试验中，饲料中添加 10 mg/kg 表面活性素缩短了凡纳滨对虾的蜕壳间期，这可能是适量的表面活性素通过乳化作用提高了脂类的消化吸收[13-16]，尤其是促进与蜕壳有关的胆固醇和卵磷脂在体内贮存而缩短凡纳滨对虾蜕壳间期的。该试验结果与试验一中凡纳滨对虾的蜕壳间期结果总体上有一定差异，可能与 2 批虾苗在饲养 1 周后首次蜕壳时间的早晚、虾苗质量的好坏及体重差异等有关，这都需要在将来的研究中进一步证实。

正常情况下，体内自由基的产生和清除处于平衡状态中，SOD、CAT 与 GSH-Px 是生物体抗氧化酶系的重要酶类，对生物体内活性氧自由基地清除起着关键的作用。T-AOC 是衡量机体总抗氧化能力的重要指标，机体内 MDA 的含量越高表明机体脂质受活性氧、自由基氧化损害的程度越大[35]。本试验中，饲料中适量添加表面活性素显著提高凡纳滨对虾肝胰腺 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 T-AOC，降

低 MDA 水平，说明表面活性素具有提高凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化能力的作用。这与李剑[15]和翟少伟等[36]在饲料中添加 50 mg/kg 表面活性素提高了吉富罗非鱼肝胰脏抗氧化能力的结果一致，孙秀文[16]在斜带石斑鱼（*Epinephelus coioides*）幼鱼上也有类似的报道。表面活性素提高水产动物肝脏或肝胰腺抗氧化能力可能与其分子中含有天冬氨酸和谷氨酸 2 种酸性氨基酸，它们与 Fe^{2+}和 Cu^{2+}螯合，降低金属离子的催化反应，减少自由基的生成，从而改善肝胰脏的健康状况有关[15,36-37]。

本研究中，随着表面活性素添加水平的升高，凡纳滨对虾蜕壳间期呈升高的趋势，而肝胰腺抗氧化能力呈下降的趋势。这可能与表面活性素的乳化特性有关，其在临界胶束浓度以下时，随着添加水平的增加乳化能力增强，当添加水平超过其临界胶束浓度后，乳化能力趋于稳定，乳化效果不再增强[38-39]。

4 结　论

① 本试验条件下，饲料中胆固醇水平及其与卵磷脂水平的交互作用可显著影响凡纳滨对虾蜕壳间期，胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%时蜕壳间期最短。

② 在胆固醇和卵磷脂水平分别为 0.4%和 2.0%的饲料中添加 10 mg/kg 表面活性素可缩短凡纳滨对虾蜕壳间期，提高肝胰腺抗氧化能力。

参考文献：

[1] HOLME M H,ZENG C S,SOUTHGATE P C.The effects of supplemental dietary cholesterol on growth,development and survival of mud crab,*Scylla serrata*,megalopa fed semi-purified diets[J].Aquaculture,2006,261(4):1328–1334.

[2] SHEEN S S.Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab *Scylla serrata*[J].Aquaculture,2000,189(3/4):277–285.

[3] 杨建梅,王安利,肖涛,等.饲料中卵磷脂对养殖水生动物生理的影响[J].海洋湖沼通报,2006(4):101–106.

[4] D'ABRAMO L R,BAUM N A.Choline requirement of the microcrustacean *Moina macrocopa*:a purified diet for continuous culture[J].The Biological Bulletin,1981,161(3):357–365.

[5] KANAZAWA A,TANAKA N,TESHIMA S,et al.Nutritional requirements of prawn.Ⅱ.Requirement for sterols[J].Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries,1971,37(3):211–215.

[6] TESHIMA S I,KANAZAWA A,KAKUTA Y.Effects of dietary phospholipids on growth and body composition of the juvenile prawn[J].Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries,1986,52(1):155–158.

[7] THONGROD S,BOONYARATPALIN M.Cholesterol and lecithin requirement of juvenile banana shrimp,*Penaeus merguiensis*[J].Aquaculture,1998,161(1/2/3/4):315–321.

[8] GONG H,LAWRENCE A L,JIANG D H,et al.Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei*: Ⅰ.Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction[J].Aquaculture,2000,190(3/4):305–324.

[9] PAIBULKICHAKUL C,PIYATIRATITIVORAKUL S,KITTAKOOP P,et al.Optimal dietary levels of lecithin and cholesterol for black tiger prawn *Penaeus monodon* larvae and postlarvae[J].Aquaculture,1998,167(3/4):273–281.

[10] 王克行.虾蟹类增养殖学[M].北京:中国农业出版社,1997:154–155.

[11] 王纪亭,宋憬愚,李海涛,等.乳化剂对建鲤生长及血液生化指标的影响[J].大连水产学院学报,2009,24(3):257–260.

[12] 卿兰才,高来,刘学进,等.乳化剂在水产养殖中的应用[J].饲料与畜牧,2009(7):58–60.

[13] MAKKAR R S,CAMEOTRA S S.Biosurfactant production by a thermophilic *Bacillus subtilis* strain[J].Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology,1997,18(1):37–42.

[14] 张天胜.生物表面活性剂及其应用[M].北京:化学工业出版社,2005:3–6.

[15] 李剑.表面活性素在吉富罗非鱼饲料中的应用研究[D].硕士学位论文.厦门:集美大学,2015.

[16] 孙秀文.饲料中添加表面活性素对斜带石斑鱼幼鱼生长性能、脂肪代谢及肝脏健康的影响[D].硕士学位论文.厦门:集美大学,2016.

[17] 姜令绪.环境因子对甲壳动物免疫力和抗氧化酶活力的影响[D].硕士学位论文.青岛:中国海洋大学,2004.

[18] MYKLES D L,HAIRE M F,SKINNER D M.Immunocytochemical localization of actin and tubulin in the

integument of land crab (*Gecarcinus lateralis*) and lobster (*Homarus americanus*)[J].Journal of Experimental Zoology Part A,2000,286(4):329–342.

[19] 王建梅,王维娜,王安利,等.盐度胁迫下维生素 E 对南美白对虾体内抗氧化物质含量的影响[J].水产养殖,2003,24(5):33–36.

[20] 龙晓文,吴旭干,刘智俊,等.盐度对脊尾白虾存活、生长和蜕壳的影响[J].广东农业科学,2014,41(23):111–115,130.

[21] 关建义,吕艳杰,张宇,等.KK-42 对日本沼虾幼虾蜕皮周期的影响及其可能机制[J].水产学报,2016,40(6):867–872.

[22] TAO X,WANG C,WEI H,et al.Effects of dietary cholesterol levels on moulting performance,lipid accumulation,ecdysteroid concentration and immune enzymes activities of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J].Aquaculture Nutrition,2014,20(5):467–476.

[23] SMITH D M,TABRETT S J,BARCLAY M C.Cholesterol requirement of subadult black tiger shrimp *Penaeus monodon* (*Fabricius*)[J].Aquaculture Research,2001,32(Suppl.1):399–405.

[24] NRC.Nutrient requirements of fish and shrimp[S].Washington,D.C.:National Academy Press,2011.

[25] 黄姝.实验室条件下中华绒螯蟹成蟹的蜕壳、生长观察与蜕皮激素受体基因的克隆、表达分析[D].硕士学位论文.上海:上海海洋大学,2014.

[26] CHANG E S,MYKLES D L.Regulation of crustacean molting:a review and our perspectives[J].General and Comparative Endocrinology,2011,172(3):323–330.

[27] MYKLES D L.Ecdysteroid metabolism in crustaceans[J].The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology,2007,127(3/4/5):196–203.

[28] HAN T,WANG J T,LI X Y,et al.Effects of dietary cholesterol levels on the growth,molt performance,and immunity of juvenile swimming crab,*Portunus trituberculatus*[J].The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh,2015,67:1–12.

[29] LUO X,CHEN T,ZHONG M,et al.Differential regulation of hepatopancreatic vitellogenin (VTG) gene

expression by two putative molt-inhibiting hormones (MIH1/2) in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J].Peptides,2015,68:58–63.

[30] WANG J T,HAN T,LI X Y,et al.Effects of dietary phosphatidylcholine (PC) levels on the growth,molt performance and fatty acid composition of juvenile swimming crab,*Portunus trituberculatus*[J].Animal Feed Science and Technology,2016,216:225–233.

[31] CASTELL J D,COVEY J F.Dietary lipid requirements of adult lobsters,*Homarus americanus* (M.E.)[J].The Journal of Nutrition,1976,106(8):1159–1165.

[32] KEAN J C,CASTELL J D,BOGHEN A G,et al.A re-evaluation of the lecitihin and cholesterol requirements of juvenile lobster (*Homarus americanus*) using crab protein-based diets[J].Aquaculture,1985,47(2/3):143–149

[33] LESTER R,CAREY M C,LITTLE J M,et al.Crustacean intestinal detergent promotes sterol solubilization[J].Science,1975,189(4208):1098–1100.

[34] BRIGGS M R P,JAUNCEY K,BROWN J H.The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semi-purified diets[J].Aquaculture,1988,70(1/2):121–129.

[35] 施兆鸿,张艳亮,高权新,等.饲料维生素 E 水平影响云纹石斑鱼幼鱼对氨氮胁迫的响应[J].动物营养学报,2015,27(5):1596–1604.

[36] 翟少伟,李剑,陈学豪,等.饲料中添加表面活性素对罗非鱼肝胰脏生理生化指标的影响[J].饲料研究,2015(23):46–48,54.

[37] YALÇIN E,ÇAVUŞOĞLU K.Structural analysis and antioxidant activity of a biosurfactant obtained from *Bacillus subtilis* RW-Ⅰ[J].Turkish Journal of Biochemistry,2010,35(3):243–247.

[38] SEYDLOVÁ G,SVOBODOVÁ J.Development of membrane lipids in the surfactin producer *Bacillus subtilis*[J].Folia Microbiologica,2008,53(4):303–307.

[39] 李翌,邹爱华,叶汝强,等.表面活性素分子结构对其胶束化行为的影响[J].物理化学学报,2011,27(5):1128–1134.

Effects of Dietary Cholesterol and Lecithin Levels and Surfactin Supplementation on Intermolt Period of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

ZHAI Shaowei SU Baoyuan ZHANG Chunxiao*

(*Xiamen Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Fisheries College of Jimei University, Xiamen* 361021, *China*)

Abstract: Two experiments were conducted to evaluate the effects of dietary cholesterol and lecithin levels on intermolt period and surfactin supplementation on intermolt period and antioxidant ability in hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), respectively. In trial 1, one hundred Pacific white shrimp with an average body weight of (0.61±0.02) g were randomly divided into 10 groups with 10 replicates per group and one shrimp per replicate, and the shrimps were fed a basal diet in control group and those in 9 experimental groups were fed experimental diets supplemented with 0.2%, 0.4% and 0.6% cholesterol and 1.0%, 2.0% and 3.0% lecithin, respectively. The trial 1 lasted for 35 days. This trial was conducted to study the effects of dietary cholesterol and lecithin levels on intermolt period of Pacific white shrimp. In trial 2, ninety Pacific white shrimp with an average body weight of (0.48±0.03) g were randomly divided into 6 groups with 16 replicates per group and one shrimp per replicate, and the shrimps were fed the experimental diet containing 0.4% cholesterol and 2% lecithin in control group and those in 5 surfactin supplementation groups were fed experimental diets supplemented with 10, 20, 40, 80 and 160 mg/kg surfactin on the basis of the control group diet. The trial 2 lasted for 28 days. This trial was conducted to evaluate the effects of surfactin supplementation on intermolt period and antioxidant ability in hepatopancreas of Pacific white shrimp. The results showed as follows: the intermolt period was significantly affected by the dietary cholesterol level and the interaction between cholesterol and lecithin levels (P<0.05), but not significantly affected by dietary lecithin level (P>0.05). The intermolt period of the group fed diet with 0.4% cholesterol and 1.0% lecithin, the group fed diet with 0.4% cholesterol and 2.0% lecithin and the group fed diet with 0.6% cholesterol and 2.0% lecithin

*Corresponding author, associate professor, E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn (责任编辑 菅景颖)

was significantly shorter than that of other groups ($P<0.05$), and the intermolt period of group fed diet with 0.4% cholesterol and 2.0% lecithin was the shortest among all the groups. Compared with the control group, the intermolt period of 10 mg/kg surfactin supplementation group was significantly shortened ($P<0.05$), and the total antioxidant capacity in hepatopancreas was significantly increased ($P<0.05$). The superoxide dismutase activity in hepatopancreas of all surfactin supplementation groups was significantly increased compared with the control group ($P<0.05$). Compared with the control group, the catalase activity in hepatopancreas of 10 and 20 mg/kg surfactin supplementation groups was significantly increased ($P<0.05$), while that of the other surfactin supplementation groups was significantly decreased ($P<0.05$). The glutathione peroxidase activity in hepatopancreas of all surfactin supplementation groups (except the 10 mg/kg surfactin supplementation group) was significantly higher than that of control group ($P<0.05$). The malondialdehyde level in hepatopancreas of 10 and 20 mg/kg surfactin supplementation groups was significantly decreased compared with the control group ($P<0.05$). In conclusion, under the present trial condition, dietary cholesterol level and the interaction between cholesterol and lecithin levels can significantly affect the intermolt period of Pacific white shrimp, and the shortest intermolt period is obtained when dietary cholesterol and lecithin level are 0.4% and 2.0%, respectively. The 10 mg/kg surfactin supplemented in the diet with 0.4% cholesterol and 2.0% lecithin can shorten the intermolt period and improve the antioxidant ability in hepatopancreas of Pacific white shrimp.

Key words: cholesterol; lecithin; surfactin; Pacific white shrimp; intermolt period